

Opponensi vélemény

Dr. Antus Balázs

“A légúti gyulladás és az oxidatív stressz non-invazív vizsgálata tüdőbetegségekben”
című MTA doktori értekezéséről

Általános értékelés

Dr. Antus Balázs MTA doktori disszertációját magyar nyelven, 175 oldalban foglalja össze a doktori szabályzat által megfogalmazott követelményeknek megfelelően. A disszertáció 12 fejezetet, 44 ábrát és 31 táblázatot tartalmaz. A bemutatott ábrák és táblázatok jól szerkesztettek, könnyen érthetőek. Több táblázat (pl. a 17., 20., 22.) esetén viszont hiányzik a szignifikanciák jelölése. Az irodalmi hivatkozások száma 317, az idézett közlemények bizonyítják a szerző irodalmi jártasságát.

A dolgozat külalakját, valamint szerkezetét tekintve is igényes, szép munka. Az értekezés megfogalmazása világos, szabatos. Néhány kivételtől eltekintve (pl. 10. oldal “fentebbi gondolatok”) a magyar nyelv használata mind nyelvtanilag, mind pedig tartalmilag helyes. A kutatómunka során a jelölt számos értékes, új eredményt ír le.

A témaválasztás rendkívül időszerű és korszerű. A krónikus légúti gyulladás és oxidatív stressz több tüdőbetegségben is megfigyelhető, pl. krónikus obstruktív tüdőbetegségben (COPD), cisztás fibrózisban (CF) vagy bronchiolitis obliterans szindrómában (BOS). A légúti gyulladás és oxidatív stressz követése fontos prognosztikus, diagnosztikus és terápiás követési markerekkel kecsegtet.

Formai észrevételek

A disszertációban sok rövidítés található, ami némileg megnehezíti a tüdőgyógyászati témában nem igazán jártas bíráló dolgát. Ennek ellenére a Jelölt becsületére legyen mondván, a rövidítéseket definiálja és a rövidítések listája is teljes. Egyes esetekben még olyan szavakat is rövidített, amik csak egyszer fordulnak elő (pl. kataláz, Egészségügyi Világszervezet). A fejezetek címében szerencsésebb lett volna elkerülni a rövidítések használatát.

Némileg zavaró, hogy több szó esetében is keveredik a magyar és a latin írásmód (pl. myeloperoxidáz).

Visszatérő hiba, hogy a Jelölt a tizedesjegyeket ponttal, és nem vesszővel jelzi.

Tartalmi észrevételek

A disszertáció többnyire követi a hagyományos tagolást (irodalmi háttér, célkitűzések, betegek és módszerek, eredmények, megbeszélés és irodalomjegyzék). Az irodalmi áttekintést arányaiban túl hosszúnak érzem (kb. 50 oldal az érdemi 140 oldalból). Ez valószínűleg a túlságosan alapos, néhol felesleges és részletekbe menő leírásokból adódik (pl. elérhető NO mérésre alkalmas készülékek). Nem tetszett ebben a fejezetben az sem, hogy a Jelölt többször előrevetíti saját eredményeit (pl. a 82., 147., 163-165., 179. referenciákat).

Szerencsésebb lett volna az eredményeket nem a “betegek és módszerek”-kel együtt, hanem külön tárgyalni. A “módszerek” részben levő redundanciák így jelentősen csökkenthetőek lettek volna (pl. EBC gyűjtés vagy FENO mérés többszöri leírása).

Egyes mondatok némileg redundánsak (pl. a 16. oldalon “...a köpet neutrophil- és lymphocytasejtszáma csökken [16,17], miközben a sejtek százalékos aránya általában nem változik a köpetben...”, a 95. oldalon: “A vizsgálatba szövettani vizsgálattal igazolt...”).

A gének neveit (pl. CFTR esetén) dőlt betűvel szokás jelölni.

A 20. oldalon a NF- κ B (első előfordulásakor) nincs rövidítve, csak később, a 28. oldalon.

Újabban a Δ F508-as mutációt delF508-ként írják (20. és 91. oldal).

A 63. oldalon nincsenek rövidítve a kifejezések (pl. COPD, MDA, BOS).

A 64. oldalon jó lett volna feltüntetni a különböző vizsgálatok etikai engedélyének számát is.

A 66. oldalon a 6. táblázatban található betegek sorszáma (1-16) meglehetősen, hiszen a vizsgálatba bevont betegek száma csak 9 volt.

A Jelölt a dolgozatban több helyen is kijelenti, hogy kissé alacsonyabbak vagy magasabbak bizonyos értékek, holott nincsen szignifikáns különbség a csoportok között. Ha a különbség nem szignifikáns, akkor nem lehet ezt kijelenteni. Pl. a 75. oldalon leírtak szerint “A dohányos betegek FENO értéke kissé alacsonyabbnak mutatkozott az ex-dohányosokhoz képest, a különbség azonban nem volt szignifikáns ($p=0.312$).”; “A COPD-s betegcsoportban a dohányos betegek FENO értéke kissé alacsonyabb volt az ex-dohányos betegekéhez képest (21.3 [15.6-29.0] vs. 27.3 [19.4-38.3] ppb), a különbség azonban nem volt szignifikáns ($p>0.05$).” (88. oldal); “...a rendszeresen tobramycinnel vagy colomycinnel kezelt betegek pH-ja is csak kismértékben volt magasabb az antibiotikumokkal nem kezelt betegek értékeihez képest (EcoScreen: 6.33 ± 0.03 vs. 6.25 ± 0.04 , $p=0.135$; R-Tube: 5.96 ± 0.04 vs. 5.85 ± 0.06 , $p=0.193$).” (94-95. oldal).

A 91. oldalon a Cl^- eleve iont jelent, így felesleges azt külön odaírni.

A citokin microarray leírásánál jó lett volna feltüntetni egy külön táblázatban, hogy mely citokineket vizsgálták.

A 120. oldal utolsó bekezdésében található adatok esetén a százaz nagyságrendű értékeknél nincs értelme a tizedesjegyek feltüntetésének.

Az elütések száma nem jelentős, én a következőket vettem észre:

6. oldal, rövidítések jegyzéke: AP-1 aktivátor **protien-1**, BAL **bronchoolveolaris** lavage

11. oldal, 3. sor: biomarkerek

16. oldal, 6. sor: belégzésének fokozódás

28. oldal, 14. sor: aktivátor **protien-1** (AP-1)

40. oldal, 3. sor: éréke

40. oldal, 5. sor: párhozamosan

Kérdések a Jelölthöz

1. Több mediátor koncentrációja a dohányzásról való leszokás után is emelkedett marad. Mivel magyarázza ezt a Jelölt?

2. Több esetben is probléma az eredmények értelmezésénél, hogy a tüdőbetegségek kialakulásában szerepet játszó dohányzás is befolyásolja a gyulladásos paraméterek értékét. Melyek azok a mediátorok amelyeket nem befolyásol a dohányzás?

3. Férfiakban és nőkben nem volt különbség a FENO szintekben. Az életkor befolyásolja-e a FENO szintet?

4. A 17. táblázat szerint a vizsgálatba 20 kontroll és 43 tüdődaganatos beteget vontak be. Mi indokolja ezt a nagy számbeli különbséget? Az előbbi táblázatban lemaradt a szignifikanciák jelölése. Van-e különbség a két csoport betegeinek az életkorában, nemében (a tüdődaganatosok

csoportban 2x több a férfi, mint a nő, míg a kontroll csoportban 1:1 az arány)? Ha van különbség, akkor miért alakították így a csoportokat? Az említett paraméterek nem befolyásolhatják az eredményeket? Az elemszámbeli és életkor szerinti különbségek a 20. táblázatban leírt kísérleteknél is fennállhatnak (ráadásul itt is hiányzik a szignifikanciák jelölése).

5. A Jelölt szerint az Ecoscreen vagy az R-Tube a megbízhatóbb eszköz a kilégzett levegő kondenzátum gyűjtésére?

6. A 86. oldalon leírtak szerint a pH-mérések előtt a mintákat $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tárolták, az átlagos tárolási idő $2,9 \pm 5,5$ hónap volt. Miért volt ilyen nagy a szórás? A tárolási idő befolyásolja-e a mérési eredményeket?

7. A 91. oldalon a 16. táblázat szerint csak 20 CF-es betegtől gyűjtöttek köpetet, pedig a vizsgálatba 46 beteget vontak be. Honnan adódik ez a különbség, miért nem gyűjtöttek köpetet az összes betegtől?

8. A microarray kísérletekben kapott citokin mintázat eltéréseinek különbözősége utalhat-e az azokat érintő sejtek identitására?

9. Az EBC pH napi variabilitása még az egészségeseknél is igen jelentős. Mi okozza ezt a variabilitást? Hogyan vették ezt figyelembe a kísérletek tervezésénél? Nemi és életkorbeli eltérések megfigyelhetők-e? Mivel magyarázza a Jelölt, hogy a magas NH_3 koncentráció nem befolyásolja az EBC pH-ját?

10. Az MDA szintek napok-közötti variabilitása jelentős. Napon belül (reggel-délben-este) vizsgálták-e az MDA értékeket?

11. COPD-ben a szteroid kezelés hatására a köpetben található eosinophilsejtek száma általában csökken, míg a neutrophilsejtek száma nem változik, az orális teofillin készítmények kismértékben csökkentik azt. Mivel magyarázhatók ezek a specifikus hatások?

12. A microarray vizsgálatokkal kapott eredmények (ld. 105. és 107. oldal) nem mutatnak nagy változásokat, noha bizonyos esetekben ezt várná az ember. Mivel magyarázza ezt a jelölt? A különböző, de egy csoportba tartozó poolozott minták használata esetén mennyire voltak reprodukálhatóak az eredmények? A microarray eredményeket validálták-e egy másik módszerrel (pl. ELISA)?

13. A BOS betegek követése $2,3 \pm 2,6$ hónap volt. Hogyan értelmezhető ez a nagy SEM érték?

14. A kolonizált és a nem-kolonizált tüdőtranszplantáltak EBC pH-ja közel azonos volt. A kolonizáció típusa vajon befolyásolhatja-e az EPC pH-t?

15. A 40. és a 43. ábra esetén az inadekvát köpetminta a túlságosan magas laphám kontamináció miatt volt? Hányszor próbáltak egy betegtől köpetmintát nyerni?

16. A dohányzás és az asztmás betegségben megfigyelt kilégzett levegő kondenzátum pH értékek csökkenése adódhat-e a légúti epitél sejtek H^+ , illetve a HCO_3^- transzportereinek expresszió és/vagy funkció módosulásából?

Az értekezés új megállapításai

1. Tüdőtranszplantált betegek légúti infekciója során a frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid (FENO) koncentráció megemelkedik, amely segítheti az infekció diagnózisának felállítását. A BOS kialakulása ugyanakkor nem okoz szignifikáns FENO koncentráció emelkedést.

2. Akut exacerbáció miatt hospitalizált COPD-s betegekben a FENO szint szoros, pozitív korrelációt mutat az exacerbáció kezelése során elért FEV_1 -növekedés mértékével, és $26,8\text{ ppb}$ -s optimális FENO határérték mellett a terápiára reagáló és nem reagáló (FEV_1 -növekedés szempontjából) alcsoportok jó szenzitivitással és specificitással elkülöníthetők egymástól.

3. Az exacerbációban lévő és köpet eosinophiliát mutató COPD-s betegek funkcionális válaszkészsége nagyobb a köpet eosinophiliát nem mutató, azaz kizárólag neutrophil légúti gyulladással jellemzett betegekhez képest.

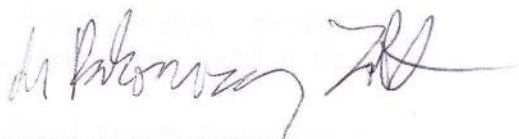
4. A FENO jó prediktív értékű biomarkere a köpet eosinophiliának az akut exacerbációban lévő COPD-s betegekben.
5. Az exacerbációban lévő és kórházi ellátásra szoruló asztmás betegek EBC mintái savasabbak az egészségesekhez képest, míg az EBC pH-ja COPD-ben, CF-ben, rosszindulatú tüdődaganatban vagy a BOS szövődményében szenvedő betegekben nem tér el az egészségesekben mért értéktől.
6. A tüdődaganatos, valamint a BOS szövődményében szenvedő betegek kondenzátumának citokin mintázata eltér a rosszindulatú daganatban nem szenvedő kontroll személyek, illetve a BOS-mentes tüdőtranszplantált betegek kondenzátumának citokin mintázatától.
7. A köpet MDA koncentrációja jól reprodukálhatóan mérhető HPLC technika segítségével, és e mérések alapján a légutakban zajló oxidatív stressz-hatás mértéke jól nyomon követhető a stabil és az exacerbációban lévő COPD-s betegekben.
8. A köpetben kimutatható eikozanoidok közül a LTB_4 , a 8-izoprosztán és a PGE_2 koncentrációja egyaránt megemelkedik COPD akut exacerbációjában, azonban e mediátorok közül egyedül a PGE_2 koncentrációja csökken az exacerbáció-kezelés következményeként, ami felveti a PGE_2 -nek légúti biomarkerként való alkalmazásának lehetőségét.

Összefoglaló értékelés

Az értekezésről összességében elmondható, hogy fontos vizsgálatokat mutat be, melyhez a jelölt nemzetközileg is elfogadott, korszerű módszereket használt. Ezek egy része remélhetőleg a klinikumban is alkalmazást nyer majd. Véleményem szerint a dolgozat eleget tesz a MTA doktora cím elnyeréséhez támasztott követelményeknek.

Mindezek alapján javaslom az értekezés nyilvános vitára bocsátását, és sikeres védelem esetén az MTA doktora cím odaítélését.

Szeged, 2015. július 2.



Dr. Rakonczay Zoltán
tudományos tanácsadó
az MTA doktora